

SOBRE A PROTEÇÃO DA ÁGUA CONTRA O OXIGÊNIO DO AR COM O AUXÍLIO DE ÓLEOS MINERAIS E VEGETAIS

Paulo Sawaya

(Lab. de Fisiologia Geral e Animal
Dept. de Zoologia da Universidade
de São Paulo)

Durante as pesquisas sobre a respiração de Crustáceos, realizadas neste Laboratório, foi notado elevar-se, em certas ocasiões, o teor do oxigênio na água que continha o animal. Este fenômeno ocorreu com certa frequência, e, no cômputo dos resultados, sistematicamente foram desprezadas as respectivas determinações, visto terem sido levadas à conta de defeitos de técnica. Nas dosagens empregou-se o método de Winkler, o qual, é sabido, não está isento de falhas.

Ultimamente, ao estudar o comportamento do caranguejo dos arredores de São Paulo, quando submetido a diferentes tensões de oxigênio, D. Valente (1945, p. 92) anotou, algumas vezes, o fenômeno acima referido, e, na bibliografia disponível verificou ter Helff (1929, p. 94) observado idêntico fato com o *Cambarus immunis*, registrando-o como fenômeno de "reversão de oxigênio". Segundo este autor, o animal em experiência "revertia" oxigênio ao líquido em que estava imerso, e daí a elevação do teor do gás, após uma série de dosagens.

Além desta possibilidade, cuja discussão será objeto de próximo trabalho, foi lembrada também a da penetração do oxigênio através do óleo posto sobre a água. Como se sabe, para determinação do consumo de oxigênio pelos animais aquáticos, procura-se eliminar a influência do ar sobre a massa líquida, e, para isso, comumente se usa, entre outros meios, o da proteção com uma camada de óleo, geralmente mineral.

Pretendeu-se, durante muito tempo, que essa camada de óleo impediria a penetração do oxigênio do ar na água subjacente.

Porém, desde que Kubie (1927, p. 547) registrou, experimentalmente, ser o óleo mineral medicinal capaz de dissolver quantidades apreciáveis de oxigênio e de outros gases, surgiram dúvidas sobre a eficácia da proteção oferecida pelo óleo contra a influência do oxigênio do ar. Assim, Lallemand (1932, p. 720) concluiu, de suas experiências, que o óleo de parafina não impede a contaminação da água pelo oxigênio. Quando empobrecida desse gás a água atinge o equilíbrio com a atmosfera (ca. de 9 mg de oxigênio por litro) cerca de 50 horas depois do início da experiência, e, quando recoberta com uma camada de 20 mm. de espessura de óleo de parafina, tal equilíbrio só se dá por volta de 100 horas. Mesmo aumentando a espessura do filme de óleo para 40mm, e eliminando-se o gás pela fervura, a água pobre em oxigênio mantém o teor baixo do gás apenas durante 6 horas.

Os resultados das experiências de Lallemand coincidem com os de Hill (1929, p. 374).

Por sua vez, ao fazerem a revisão crítica do método de Winkler, durante os estudos de respiração, Allee & Oesting (1934, p. 525) dedicam um capítulo especial à proteção contra o oxigênio do ar pelos óleos minerais, e verificam que o uso de uma camada de óleo de 1 cm de espessura permite a entrada de certa quantidade de gás em 24 horas. Quando, porém, as camadas são de 2-5 cms de altura, consegue-se evitar a contaminação da água pelo oxigênio.

Da bibliografia ao alcance se deduz não terem os especialistas abordado este tema sistematicamente, mas apenas no decorrer de outros estudos, e, em especial nos referentes à respiração de animais aquáticos, fazem, ocasionalmente, comentários a respeito da eficácia do óleo mineral como protetor. Em geral, quando mencionam o método seguido, apenas costumam indicar terem usado uma camada de óleo de espessura que varia ao redor de 3,5 cms. Assim, o fazem Helff (1928, p. 79), Schleifer (1938, p. 408) entre muitos outros.

Dada a importância deste estudo para aplicação do método de Winkler na determinação do consumo do oxigênio pelos animais aquáticos, julguei oportuno e conveniente tentar determinar: a) quais os óleos minerais, ou vegetais, atualmente disponíveis no mercado, que oferecem melhor proteção; b) qual a duração dessa proteção e que espessura deve ter a camada isoladora.

Ao abordar este tema, de importância prática para os exercícios de fisiologia comparativa realizados usualmente pelos estudantes, foi também levado em conta o lado econômico, em virtu-

de das atuais condições de escassês destes produtos, determinadas pela guerra.

Dentre os oleos minerais existentes atualmente no comércio, foi possível conseguir quantidades apreciáveis dos registrados pelos nomes de Sidepaline, Enian, Vaselina líquida Alcan e Vaselina líquida Americana, todos produtos da destilação do petróleo e indicados na tabela II pelos algarismos I a IV. Dos óleos vegetais apenas obtive os de marca Rita, mistura de oleos de amendoim e de oliva, e Rubi, proveniente da semente do amendoim. (numerados V e VI da Tabela II.)

A caracterisação de todos êstes oleos foi feita pelo índice de refração (tabela II) (*)

Finalmente, apenas alguns reparos ao método aqui empregado para dosagem do oxigênio. Tratando-se de um subsídio para os estudos da respiração de animais aquáticos, tenho preferido o clássico método de Winkler, na modificação proposta por Birge & Juday (1911, p. 13). Sobre a eficácia deste método para os estudos da respiração, Allee & Oesting, (1.c.) apresentam bem condensada revisão bibliográfica, sendo significativas as suas conclusões de aceitabilidade do mesmo. Não obstante a afirmação desses autores, e as conclusões de Wilder (1938, p. 471) resultantes de sua comparação com os processos de van Slyke, em que se verificou não haver diferença estatística entre os dois métodos, resolvi reproduzir os resultados obtidos pelo emprego de volumes da mesma agua destilada compreendidos entre 30.4 e 57.89 cm³,—isto é, exatamente dentro das condições particulares em que realizei todo o presente trabalho. A tabela I mostra que o coeficiente de variação é de 4,6⁰/₀₀, portanto dentro dos limites do método

Tendo usado aqui a água destilada como veículo, julguei dispensável o emprego das modificações propostas por Rideal & Stewart (1901), por Evolve (1914, p. 20) por Alsterberg (1925, p. 42) e outros, modificações indispensáveis quando na agua ocorrem substâncias capazes de influir sobre a libertação do iodo, tais como, nitritos, sais de ferro, etc.

EXPERIÊNCIAS

Para a colheita das amostras utilizei-me de frascos de capacidade entre 30 e 60 cm³. Afim de eliminar o quanto possível os erros nas titulações, muitas vezes retiraram-se amostras duplica-

(*) Agradeço ao Prof. Dr. João Francisco Mafei, do Instituto de Pesquisas Tecnológicas, o obséquio da determinação destes índices.

das no mesmo instante, computando-se o teor do gás para o gráfico pela média das respectivas dosagens.

Vasos de vidro de cerca de 2000 cm³ de capacidade e 175 cm² de área superficial, receberam 1500 cm³ de água destilada isolada da atmosfera por uma camada de óleo de espessura de 1, 1.5, 2, 3, 4 e 5 cm e foram colocados numa das salas do Laboratório, próximos a uma janela. Imediatamente depois de obtida a primeira amostra de cada vaso, recobria-se a água cuidadosamente com óleo. Em cada um dos recipientes colocou-se um termômetro. Cada hora subsequente nova amostra de água era colhida através de um tubo sifão de vidro com prolongamento de um tubo de borracha. Tanto a temperatura da água como a do ambiente, o pH e a pressão barométrica, foram anotados, sistematicamente, no momento da colheita das amostras.

Logo nas primeiras determinações, tendo-se observado acentuadas variações do teor de oxigênio da água, e afim de evitar a possível estratificação, foi o sifão modificado, abrindo-se no tubo de vidro até a altura de 10 cms, pequenos furos de modo a permitir colheita da água de várias alturas durante a sifonagem e consequente homogeneidade da amostra destinada à análise.

Por outro lado, foi possível, algumas vezes nos líquidos protegidos com óleos minerais e sempre naqueles em que empreguei óleos vegetais, colher amostras duplicatas, o que favoreceu verificar a reprodutibilidade do método de Winkler. Em todos os casos de amostras duplicatas a representação gráfica se fez pela média dos resultados.

As experiências iniciavam-se quasi sempre às 8 horas da manhã e prolongavam-se até às 16 ou 17 horas, o que permitiu fazerem-se, em cada série 7 a 8 determinações. Decorridas 24 horas do início da experiência, algumas vezes colhia-se mais uma amostra dos líquidos protegidos com os óleos minerais, e também das testemunhas.

Todos os óleos foram utilizados numa única vez, i.é, terminada a série de 1 cm, por ex., o óleo usado se abandonava e para a série de 1,5 cm requisitava-se novo óleo. Não se fez a fervura dos óleos para eliminação dos gases que possivelmente nêles existissem, e nem foi possível a determinação do coeficiente de solubilidade do oxigênio nos mesmos, por falta de recursos decorrentes das condições atuais.

As experiências foram realizadas durante os meses de verão de 1944 e 1945, época de certo modo desfavorável em virtude da temperatura geralmente elevada. Sendo, porém, êsse o período em que se intensificam as pesquisas no Laboratório por causa das

grandes férias escolares, resolvi não adiar as experiências para outra oportunidade. Além disso, para execução do programa de estudo da respiração a ser executado aqui no laboratório, deve-se-á contar principalmente com os meses de verão, em que não só é maior o tempo disponível, como o material é mais abundante e mais favorável. À vista disso, portanto, julguei de toda conveniência efetuar as presentes investigações nos aludidos meses.

Os vasos contendo a água destilada foram colocados no lugar onde habitualmente se realizam as experiências sobre a respiração, de modo a proporcionar aos animais experimentados condições mais próximas possíveis do seu ambiente natural. Por isso não se tomaram providências contra a influência da luz. (*)

T a b e l a I
MÉTODO DE WINKLER
Reprodutibilidade dos resultados

Amostras	Vol. de água cm ³	cm ³ /O ₂ /litro
1	54,67	4,524
2	49,01	4,525
3	56,75	4,535
4	57,89	4,501
5	49,55	4,535
6	40,18	4,563
7	51,965	4,535
8	36,95	4,517
9	39,46	4,544
10	30,04	4,572
Média	...	4,535
Erro médio	...	0,021
Erro padrão	...	0,007
Coeficiente variação	...	4,6 ‰

(*) Cumpre-me agradecer à Exma. Srta. D. Antonieta Bruno e ao Sr. João Eufrosino a valiosa cooperação nas determinações. Ao Dr. Rubens Salomé Pereira estendo estes agradecimentos pelo auxílio prestado na revisão dos cálculos e na análise estatística dos resultados.

Tabela II

Quantidades de oxigênio existentes na água destilada (valores em cm³/litro, reduzidos a 0° e 760 mm) determinadas de hora em hora pelo método de Winkler, modificado por Birge & Juday, protegida com camadas de óleos minerais e vegetais.

Hs	I	II	III	IV	TESTA- MUNHA	V	VI	TESTAMUNHA	mm Hg	Temp.
Série A : Camada de óleo 1 cm de espessura										
8	4,725-4,730	4,696-4,700	4,810-4,790	-	-	-	-	-	700,4	19 19
9	4,718-4,682	4,601-	4,680-	4,530-	-	-	-	-	700,6	20 19
10	4,633-	4,804-	4,681-	4,575	4,990	4,978-4,998	4,989-5,018	5,220-5,172	700,6	20 19
11	4,889-	4,652-	4,604-	4,798	4,888	5,030-5,118	4,974-4,964	5,022-5,003	700,2	20,5 20
12	4,906-	4,884-	4,897-	4,703	4,905	4,757-4,762	4,689-4,675	4,866-4,861	700,8	20,8 20
13	4,745-	4,995-	5,101-	4,477	4,815	-	-	-	699,6	21 20,5
14	4,892-	5,050-	4,995-	4,535	4,900	-	-	-	699,3	21,5 21
15	4,793-	4,961-	4,919-	4,528	4,900	4,160-4,871	4,521-4,503	4,929-4,974	699,2	21,7 21,4
16	4,772-	-	4,861-	4,545	4,860	4,299-4,397	4,553-4,541	4,829-4,875	699,2	20,5 21,8
17	-	-	-	-	4,900	4,478-4,379	4,541-4,553	4,996-5,034	699,2	20,9 21,8
M.	4,784	4,830	4,837	4,586	4,894	4,686	4,710-	4,982	-	-
E.m	0,095	0,168	0,162	0,108	0,052	0,302	0,221	0,126	-	-
E.p	0,032	0,059	0,054	0,038	0,018	0,123	0,090	0,052	-	-
C.V	19,8 %	34,78% 34,78% 34,78% 34,78%	33,49% 33,49% 33,49% 33,49%	23,5% 23,5% 23,5% 23,5%	10,6% 10,6% 10,6% 10,6%	64,45% 64,45% 64,45% 64,45%	46,9% 46,9% 46,9% 46,9%	25,3% 25,3% 25,3% 25,3%	-	-
Série B : Camada de óleo 1,5 cm de espessura										
9	5,100-	4,695	-	-	-	4,258-4,332	4,580-4,603	4,960-4,924	700,9	21 20,9
10	4,697-	4,573	4,890	4,733	4,782	4,248-4,226	4,521-4,491	4,986-4,918	700,6	21,2 20,6
11	4,686-	4,757	4,609	4,628	4,808	4,116-4,009	5,206-5,210	4,930-5,000	700,4	21,8 21
12	4,770-	4,595	5,050	4,626	4,674	3,833-3,954	5,241-5,248	5,152-5,160	700,4	22 21,2
13	4,803-	4,621	4,561	4,537	4,880	-	-	-	699,6	22,2 22
14	4,870-	4,623	4,569	4,580	4,770	-	-	-	699,6	22,2 22
15	4,730-	4,725	4,499	4,674	4,700	3,438-3,937	4,970-4,939	5,179-5,235	699,6	22,9 22,3
16	4,610-	5,108	4,643	4,541	4,794	3,641-3,709	4,911-4,915	4,732-4,773	699,6	22,2 22,8
17	-	-	4,613	4,890	4,800	3,509-3,529	5,034-5,084	4,796-4,737	699,6	22,2 22,8
M.	4,783-	4,712	4,654	4,651	4,776	3,917	4,925	4,963	-	-
E.m	0,099	0,17	0,22	0,11	0,065	0,31	0,285	0,173	-	-
E.p	0,030	0,0609	0,077	0,041	0,022	0,117	0,108	0,065	-	-
C.V	20,7% 20,7% 20,7% 20,7%	38% 38% 38% 38%	47% 47% 47% 47%	23% 23% 23% 23%	13% 13% 13% 13%	79,14% 79,14% 79,14% 79,14%	57,9% 57,9% 57,9% 57,9%	34,9% 34,9% 34,9% 34,9%	-	-
Série C : Camada de óleo 2 cm de espessura										
8	4,800-4,804	-	-	-	-	3,929-3,828	4,426-4,485	4,955-5,025	699,7	22 21,6
9	4,758-	4,668-4,680	4,740-4,680	4,539	4,725	3,848-3,964	4,544-4,564	5,134-5,067	699,7	22,5 22
10	4,613-	4,768-	4,656-	4,496	4,810	3,899-3,755	4,703-4,738	4,928-4,947	699,5	23 22,2
11	4,711-	4,622-	4,689-	4,661	4,760	3,835-3,832	4,467-4,426	4,947-4,949	699,5	23 22,6
12	4,837-	4,443-	4,610-	4,824	4,870	3,694-3,641	4,387-4,394	4,834-4,821	698,6	24 23
13	4,648-	4,787-	4,566-	4,695	4,760	-	-	-	698,2	24 22,9
14	4,558-	4,528-	4,586-	4,660	4,700	-	-	-	697,4	24,4 24
15	4,900-	4,575-	4,448-	4,471	4,800	3,229-3,204	4,196-4,138	4,785-4,794	697,4	25,2 24,8
16	4,570-	4,868-	4,575-	5,100	4,900	3,165-3,196	4,236-4,212	4,980-4,998	697,3	25 25
17	-	4,747-	4,500-	4,900	4,850	3,165-3,171	4,212-4,237	4,434-4,473	697,3	25 25
M.	4,710	4,667	4,593	4,705	4,797	3,585	4,398	4,880	-	-
E.m	0,122	0,138	0,085	0,207	0,057	0,336	0,188	0,197	-	-
E.p	0,040	0,045	0,028	0,068	0,022	0,119	0,067	0,07	-	-
C.V	20,5% 20,5% 20,5% 20,5%	29% 29% 29% 29%	18,5% 18,5% 18,5% 18,5%	43% 43% 43% 43%	14% 14% 14% 14%	93,7% 93,7% 93,7% 93,7%	42,7% 42,7% 42,7% 42,7%	40,4% 40,4% 40,4% 40,4%	-	-

Abreviaturas: I = óleo mineral Sidelaline (i.r. = 1,4721); II = óleo mineral Enian (i.r. = 1,4660); III = vaselina líquida Alcan (i.r. = 1,4729); IV = vaselina líquida Americana (i.r. = 1,4659); V = óleo vegetal Rita, mistura de óleo de amendoim e de oliveira (i.r. = 1,4718); VI = óleo vegetal Rubi, de amendoim (i.r. = 1,4713). C. V. = coeficiente de variação; E.m. = erro médio; E.p. = erro padrão; Hs = horas; i.r. = índice de refração; - M = média.

Tabela II (cont)

Ha	I	II	III	IV	TESTE-MINHA	V	VI	TESTEMUNHA	mm Hg	Temp.
									ar	aq.
Série D : Camada de óleo de 3 cm de espessura										
8	4,990-4,970	4,900	4,760-4,680	-	4,642-4,722	4,827-4,800	4,740-4,851	700,4	23	23,5
9	4,800 -	4,910	4,660 -	5,098	4,707	4,859-4,851	4,711-4,764	4,815-4,779	700,2	23,2
10	4,850 -	4,760	4,740 -	4,706	4,745	4,642-4,678	4,664-4,695	4,970-4,955	700,2	23,6
11	4,770 -	4,800	4,650 -	4,828	4,670	4,455-4,453	4,585-4,569	4,637-4,687	700,2	24
12	4,940 -	4,810	4,642 -	4,630	4,715	-	-	-	699,9	24
13	4,760 -	4,860	4,300 -	5,132	4,745	-	-	-	699,7	24,2
14	4,820 -	4,710	4,750 -	4,535	4,800	-	-	-	699,4	24,5
15	4,770 -	4,850	4,645 -	4,480	4,700	3,915-3,953	4,366-4,358	4,608-4,619	698,8	24,5
16	4,750 -	4,740	4,610 -	4,490	4,601	3,716-3,747	4,381-4,376	4,493-4,486	698,4	24,5
17	-	-	-	-	-	-	4,191-4,209	4,589-4,571	698,4	24,5
M.	4,827	4,815	4,657	4,737	4,710	4,385	4,710	4,771	-	-
E.m	0,082	0,070	0,076	0,26	0,059	0,450	0,221	0,16	-	-
E.p	0,027	0,023	0,025	0,092	0,02	0,183	0,0704	0,61	-	-
C.V	17 0/100	14 0/100	16 0/100	54 0/100	12 0/100	102,6 0/100	55,5 0/100	33 0/100	-	-
Série E : Camada de óleo 4 cm de espessura										
8	4,900 -	4,830	4,830 -	-	4,700	4,601-4,622	4,541-4,550	4,595-4,601	704	19
9	4,830 -	4,800	4,735 -	-	4,785	4,649-4,651	4,650-4,642	4,732-4,728	704,2	20,2
10	4,860 -	4,830	4,780 -	-	4,750	4,539-4,600	4,549-4,539	4,748-4,750	704,2	21
11	4,820 -	4,850	4,760 -	-	4,795	4,501-4,498	4,050-4,618	4,610-4,592	703,9	21,8
12	4,860 -	4,900	4,740 -	-	4,790	-	-	-	703,9	22
13	4,780 -	4,751	4,635 -	-	4,845	-	-	-	703,8	22
14	4,870 -	4,901	4,835 -	-	4,745	-	-	-	703,5	22,5
15	4,750 -	4,788	4,710 -	-	4,675	4,292-4,302	4,010-4,102	4,502-4,498	703	22,8
16	4,830 -	4,860	4,730 -	-	4,735	4,300-4,297	4,138-4,145	4,533-4,542	702,6	22,8
M.	4,835	4,834	4,750	-	4,757	4,489	4,377	4,535	-	-
E.m	0,048	0,005	0,06	-	0,052	0,15	0,24	0,17	-	-
E.p	0,016	0,016	0,02	-	0,017	0,063	0,097	0,026	-	-
C.V	9,9 0/100	10,3 0/100	12 0/100	-	10 0/100	33,4 0/100	55 0/100	37 0/100	-	-
Série F : Camada de óleo de 5 cm										
8	4,790	4,680	4,890 -	-	4,730	-	-	-	702,4	19,8
9	4,800	4,700	4,900 -	-	4,755	-	-	-	702,4	19,8
10	4,800 -	4,700	4,900 -	-	4,665	-	-	-	702,4	20
11	4,795	4,680	4,900	-	4,735	-	-	-	702,2	20
12	4,795 -	4,690	4,900 -	-	4,650	-	-	-	702	21
13	4,805	4,700	4,915	-	4,600	-	-	-	702	21
14	4,805	4,695	4,915	-	4,600	-	-	-	701	21,9
15	4,795	4,700	4,915	-	4,615	-	-	-	700,3	21,9
16	4,800	4,701	4,900 -	-	4,635	-	-	-	700,3	20
M.	4,798	4,694	4,903	-	4,665	-	-	-	-	-
E.m	0,005	0,0085	0,0089	-	0,060	-	-	-	-	-
E.p	0,0016	0,0028	0,0029	-	0,02	-	-	-	-	-
C.V	1 0/100	1,8 0/100	1,8 0/100	-	12 0/100	-	-	-	-	-

Nota: As temperaturas e pressões correspondem apenas ao momento da tomada de amostras da água destilada protegida com óleos minerais e respectiva testemunha (coluna 6.ª). As amostras relativas à água destilada protegida com óleos vegetais e correspondente testemunha (coluna 9.ª) foram colhidas em outras ocasiões, sob condições de pressão e de temperatura diferentes, não mencionadas nesta tabela.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram feitas cerca de 500 determinações da taxa de oxigênio na água. Os vasos foram dispostos no laboratório de tal modo que se podiam fazer as experiências em séries, correspondendo cada série a uma determinada camada de óleo. Assim, na primeira série foi utilizada uma camada de 1 cm de espessura, na segunda uma de 1,5, e assim por diante até a camada de 5 cm. Como testemunha foi sempre usado um vaso com 1,500 cm³ de água destilada com a superfície completamente exposta ao ar. Este vaso foi colocado entre os que recebiam, além da água, também o óleo, e, portanto, permaneceu sujeito às mesmas influências das variações de temperatura e de pressão.

Os valores obtidos nas numerosas determinações (tabela II) acham-se registrados nos gráficos 1 (A-C) e 2 (D-F) para os óleos minerais e 3 (A-C) e 4 (D-E) para os vegetais.

A simples inspeção destes gráficos mostra a variação da taxa de oxigênio no líquido em experiência.

Quanto aos óleos minerais, a análise estatística dos resultados mostra elevado coeficiente de variação (C. V.) quando o líquido se protegia pelas camadas de óleo de 1, 1,5, 2 e 3 cm de altura. Somente empregando-se os óleos referidos com espessura de 5 cm é que tal coeficiente de variação desce a limite razoável, (1 o/oo — 1,8 o/oo), pois mesmo com uma camada de 4 cm ainda tal variação, pelo menos para o caso da respiração aquática, não é satisfatória (9,9 o/oo — 12 o/oo). É claro que tais variações se operam em função da variação de temperatura e de pressão, e o fato de, ainda com uma camada protetora de 4 cm, haver sensível variação, poder-se-ia explicar pelas alterações acentuadas da temperatura e da pressão, pois o C. V. da testemunha elevou-se a 10 o/oo.

Também digno de nota é o fenômeno apresentado na série B (camada de óleo de 1.5) com C. V. bem maiores que os da série antecedente A (1 cm). Quero crêr que aqui também o fenômeno possa ser explicado pela maior variação da temperatura e das pressões, pois o C. V. da série B é de 13 o/oo enquanto o da série A é de 10,6 o/oo. O C. V. da testemunha dos óleos minerais (10,6 — 13 — 14 — 12 — 10 e 12 o/oo) chamou a atenção, especialmente por serem eles bem menores que alguns dos líquidos protegidos. Poder-se-ia lembrar, principalmente no caso da série A que, a água destilada desprotegida se coloca mais rapidamente em equilíbrio com a atmosfera. É muito possível, porisso, ter

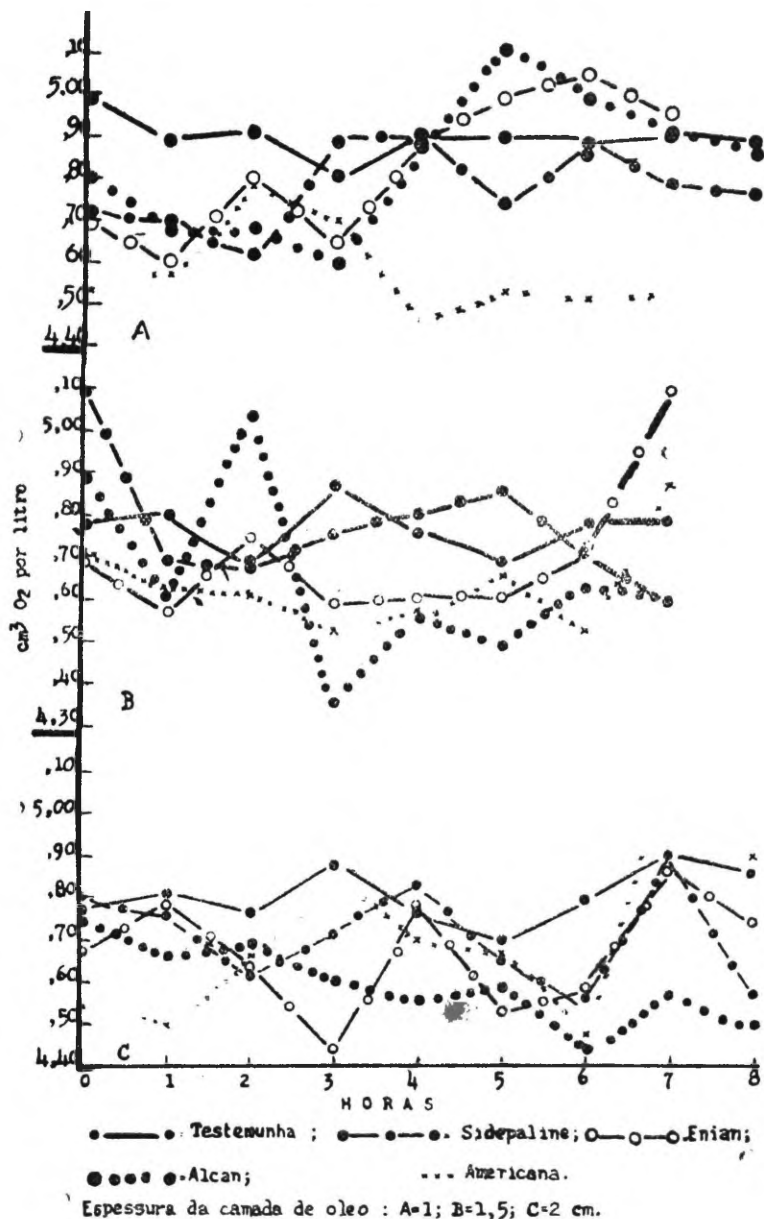


FIG. 1

Gráficos da variação das quantidades de oxigênio na água destilada protegida com óleos minerais I, II, III e IV (Sidelpaline, Enian, vaselina líquida Alcan e vaselina líquida Enian).

havido, dentro do período de uma hora, maior variação. Em consequência, estando o líquido desprotegido, os gases se dissolvem e se libertam com facilidade, ao passo que, nos líquidos cobertos com os óleos, a difusão dos gases na massa oleosa sendo mais lenta, determina retenção de gases na massa aquosa ou retarda a sua difusão na mesma. Daí, possivelmente, a menor variação dos C. V. das testemunhas.

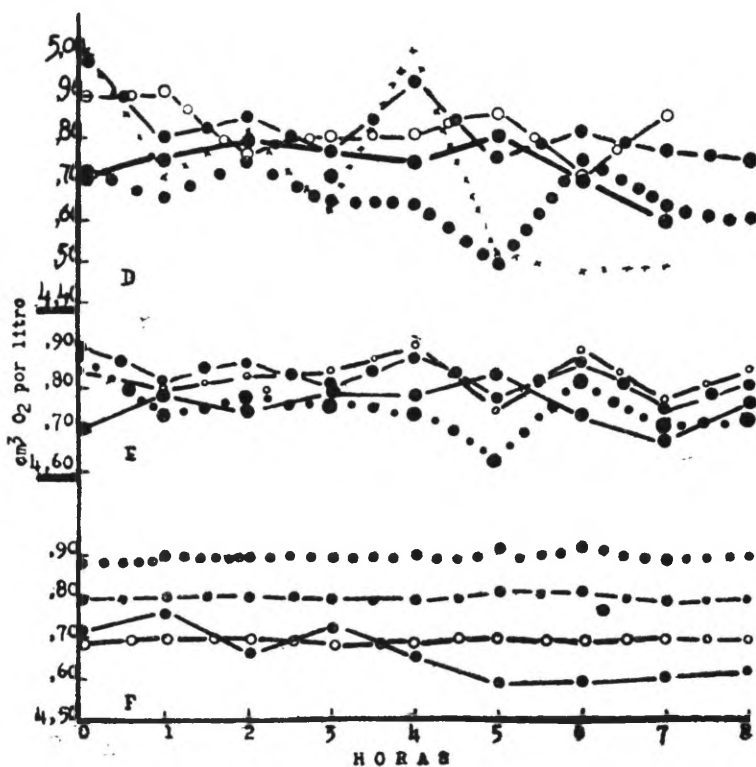


FIG. 2

Gráficos da variação das quantidades de oxigênio na água destilada protegida com óleos minerais I, II, III e IV (legenda da Fig. 1 mais: D, E e F camadas, respectivamente, de 3, 4 e 5 cm. de espessura).

Dos óleos minerais aqui empregados, vê-se que a chamada vaselina Americana (i.r. = 1,4659) é a menos favorável, pois o C. V. esteve entre 23 e 54 ‰. Por falta do produto no comércio não nos foi possível realizar as experiências das séries E e F. Dos outros óleos minerais, o designado Sidepaline (i.r. = 1,4721) se

mostrou o mais eficaz (C. V. = 19,8 — 20,7 — 20,5 — 17 — 9,9 e 1 o/oo respectivamente para as camadas de 1 — 1,5 — 2 — 3 — 4 e 5 cm).

Comparando os resultados obtidos com os oleos minerais I, II e III em que as experiências foram realizadas até 5 cm de espessura da camada protetora e que, na realidade, provaram ser os mais eficientes, nota-se um decrescimo gradativo dos C. V. correspondentes. Além disso, tomando a média das determinações como referência, e levando-se em conta os C. V. respectivos, têm-se como valores reais dessas médias o seguinte:

CAMADAS	ÓLEO I	ÓLEO II	ÓLEO III
1 cm	4,784 ± 0,095	4,830 ± 0,167	4,837 ± 0,161
2 "	4,710 ± 0,049	4,667 ± 0,135	4,593 ± 0,085
3 "	4,827 ± 0,072	4,815 ± 0,067	4,637 ± 0,074
4 "	4,835 ± 0,047	4,834 ± 0,049	4,750 ± 0,056
5 "	4,798 ± 0,005	4,694 ± 0,008	4,903 ± 0,008

Ora, de acôrdo com a tabéla I, o erro devido ao método de dosagem (Winkler) tendo um C. V. de 4,6 o/oo, em todas as determinações aqui consideradas do conteúdo do oxigênio na água protegida por êsses oleos minerais, I, II e III, (camada de espessura de 1, 2, 3, 4 e 5 cm, desprezadas as de 1,5 cm), há uma variação de $\pm 0,021$ — $\pm 0,022$ cm³, devida ao erro do método. Descontando-se êsses valores ($\pm 0,021$ — $\pm 0,022$) dos valores mencionados acima, ainda se terá, para as determinações correspondentes às camadas de 1-4, uma variação sensível, que contraindica o emprego de tais oleos em tal espessura, como protetores. Quando, porém, se comparam os resultados das determinações correspondentes à camada de 5 cm, dos três referidos oleos, nota-se que, para o período máximo de 8 horas, o C. V., tomado no seu valor proporcional às médias, é bem menor do que o erro devido ao método ($\pm 0,005$ — $\pm 0,008$ das determinações, para $\pm 0,021$ — $\pm 0,022$ do erro do método). Isso, ao meu vêr, significa que uma camada de 5 cm de espessura de qualquer um dos três oleos (I, II, III) protege eficientemente a massa líquida subjacente, de tal modo que a variação do teor do oxigênio é menor do que a de várias amostras da mesma água, retiradas ao mesmo tempo, mas sem o oleo protetor.

Quanto aos oleos vegetais, (índices de refração = 1,4718 e 1,4713) os resultados catalogados na tabela mostram tal C. V. em todos os vasos, que contraindicam o seu emprego como proteto-

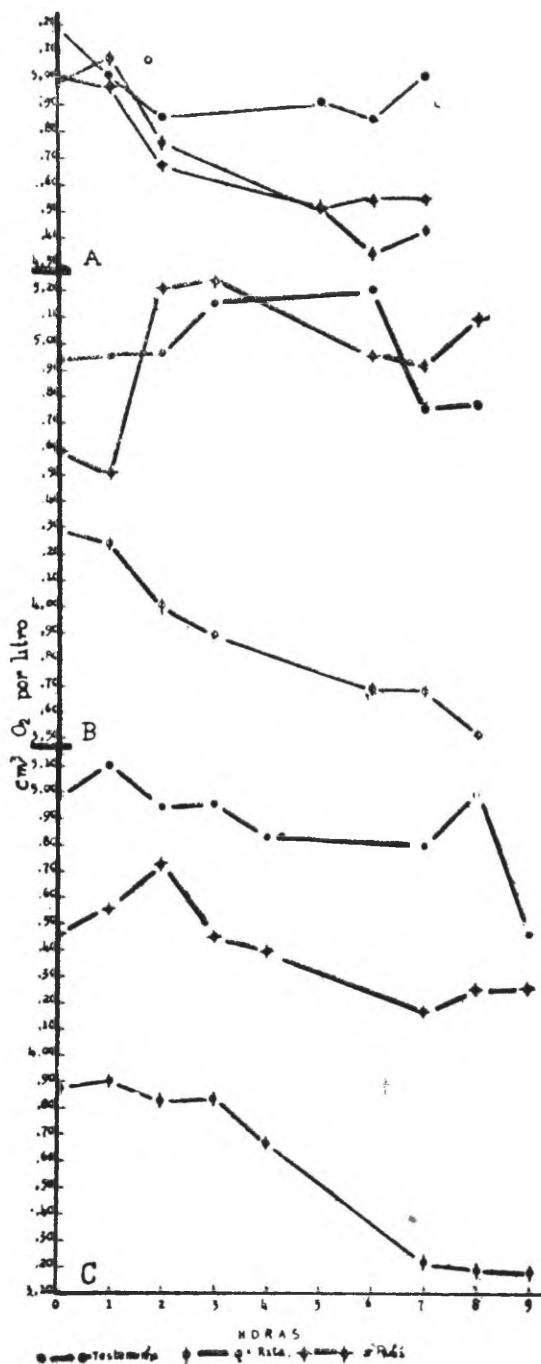


FIG. 3

Gráficos da variação das quantidades de oxigênio na água destilada protegida com óleos vegetais V e VI (Rita e Rubi); A, B e C séries com camada protetora, respectivamente, de 1, 1.5 e 2 cm. de espessura.

res. Aqui também é de se assinalar que os C. V da testemunha foram muito altos (25,3 — 34,9 — 40,4 — 33 — 37 o/oo) nas diversas séries A, B, C, D e E. Não resta dúvida que isso tenha tido decidida influência sobre os C. V dos líquidos protegidos. A carência dos produtos no comércio impediu que se completassem as experiên-

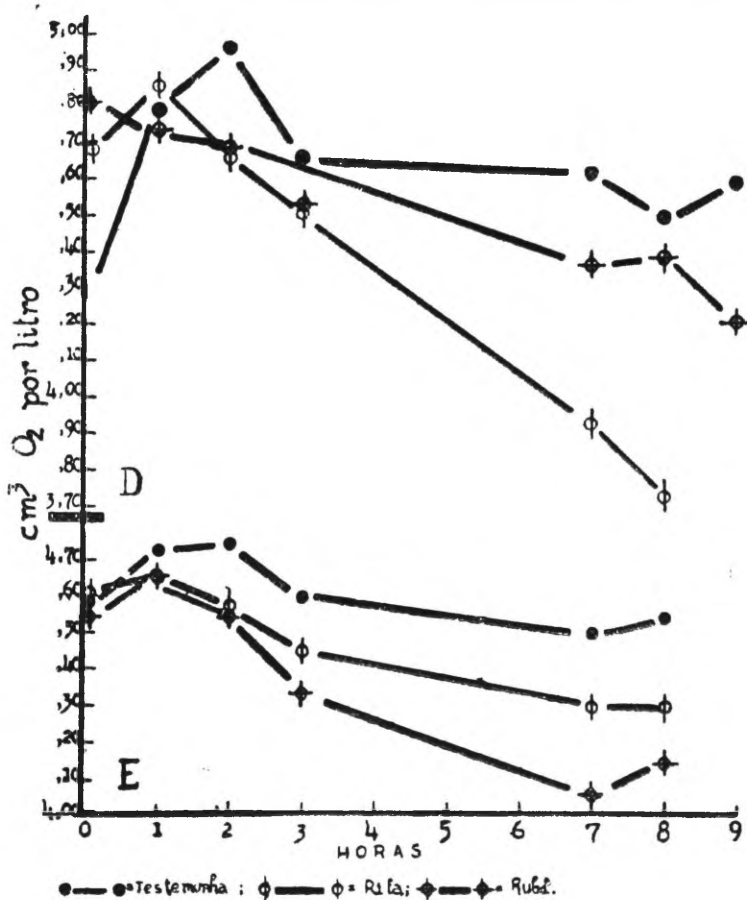


FIG. 4

Gráficos da variação das quantidades de oxigênio na água destilada protegida com óleos vegetais V e VI (Rita e Rubí); D e E camadas protetoras de 3 e 4 cm. respectivamente.

cias com a camada de 5 cm de altura. Cumpre notar, ainda quanto aos óleos vegetais, que na tabela II não se acham mencionadas as temperaturas e as pressões correspondentes, visto ter sido efe-

tuada a coléta das amostras em ocasião diferente quando se obtinham as dos líquidos protegidos com oleos minerais.

Finalmente, as amostras colhidas 24 horas depois da última determinação apresentaram grande variação do teor de oxigênio. Não tendo sido possível fazer essa colheita sistematicamente em todos os líquidos utilizados, deixo de apresentar os respectivos resultados. Apenas desejo acentuar que, mesmo nos líquidos protegidos com uma camada de 5 cm de oleos minerais, houve marcada variação, o que indica serem tais oleos inefficientes quanto à proteção durante longo tempo.

Geralmente, para o estudo que tenho em mira, i.é., da respiração dos animais aquáticos, o limite de 8 horas tem sido suficiente. Só em casos excepcionais são as experiências realizadas durante tempo mais longo. Nestes casos, e para maior exatidão nos outros também, usam-se líquidos testemunhas para controle da eficiência do oleo.

RESUMO

1. A eficacia da proteção contra o oxigênio do ar pelos oleos minerais e vegetais é estudada no presente trabalho.

2. Os oleos minerais de índice de refração entre 1,4660 e 1,4729, somente são eficazes para um período de tempo até 8 horas quando utilizados numa espessura de pelos menos 5 cms.

3. Uma camada de 5 cm. de oleo mineral protege o líquido subjacente contra o oxigênio do ar de tal modo que o coeficiente de variação do teor do oxigênio nesse líquido fica entre 1 — 1,8 o/oo i. é, dentro dos limites da variação do método de Winkled. Essa proteção é suficiente dentro do período das experiências realizadas, i. é., 8 horas.

4. As variações do teor do oxigênio em tais líquidos, indicados na tabela II, mostram serem os oleos vegetais extraídos do amendoim e da oliveira (índices de refração 1,4713 e 1,4718) bastante permeáveis ao oxigênio do ar.

5. A vista da conclusão 4 os oleos vegetais aqui utilizados não devem ser empregados como protetores dos líquidos contra o oxigênio do ar, pelo menos nos limites das experiências aqui mencionadas.

MINERAL AND VEGETAL OILS AS A PROTECTION FROM AIR-OXYGEN CONTAMINATION

The efficacy of some mineral and vegetal oils employed as protecting agents of distilled water from air-oxygen contamination has been determined by some experiments. Rectangular glass flasks of 2000 cm³ of capacity and 175 cm² superficial area received 1500 cm³ of distilled water which was covered with paraffin oil, manobi oil or olive oil, obtained at local drug stores. Six series of experiments (A-F) corresponding to mineral oil layers of 1, 1.5, 2, 3, 4 and 5 cm thick were performed. Layers of vegetal oils poured into the flasks were 1, 1.5, 2, 3 and 4 cm thick. (Séries A-E).

Mineral and vegetal oils were numbered I-VI and identified by their refraction index. (Table II).

Distilled water was not boiled and its ammount of oxygen was determined before covering with mineral or vegetal oil. Time of covering is recorded as 0 hour, and from then on hour after hour samples were taken. From this moment (8-9 o'clock a.m.) until 8 hours later (4-5 o'clock p.m.) by means of glass syphoning tubes kept into the flasks, samples of about 30-60 cm³ of water were carefully withdraw for analysis for oxygen by Winkler's methods, modified by Birge & Juday (1911, p. 13). A control flask without oil was sampled similarly. Temperature of each flask, barometric pression and pH of the samples have been recorded at the moment of sampling.

The glass remained in the laboratory room near a window, in the same place reserved for the study of respiration of aquatic animals.

The use of Winkler's method is discussed in this paper. Its accuracy is considered by Allee & Oesting (1934, p. 510) in their critical examination. They found that this method is sufficiently accurate for use in respiration studies on aquatic organisms, if adequately handled. Some authors, as for example, Wilder (1937 464), have checked the correlation of results on oxygen contents of water determined by Winkler's method and other methods, as those of van Slyke, Bunsen etc. From the comparison of relative accuracy of methods tested, it has been found that the different methods tested agreed and that the results obtained in different ways have no significant statistical difference. Notwithstanding that, I thought worth while reproducing the results obtained by the method used in my own experiments. For this, ten samples of 30-60 cm³ of the same distilled water were collected and the oxygen content determined under the same conditions as with re-

maining experiments. Table I indicates that the coefficient of variation is 4.6 per 1000, which remains within the limits of accuracy of Winkler's method.

About 500 analyses were made and the results are given in table II. These results are also recorded in Fig. 1 (A-C) and 2 (D, F.) for the mineral oils, and Fig. 3(A-C) and 4 (D-E) for the vegetal ones.

The first results of the experiments showed remarkable variation of the oxygen content of distilled water, chiefly when it was sealed with vegetal oil layers 1, 1.5 and 3 cm thick. These results were abandoned and new series were begun with duplicate analysis from each flask, the control inclusive. To avoid stratification in the water a syphon tube was adapted. The internal end of the syphon was closed and pierced at different levels and the external one terminates in a piece of rubber tubing closed by a clamp. In this way, it was possible to withdraw water from the different layers without stirring it.

After the end of one series of experiments some flasks were allowed to stand overnight and then one more sample was tested. The results showed intense oxygen leakage in some flasks, and in others the oxygen content was increased. Unfortunately, these experiments were not performed systematically and data cannot be compared.

Each series of experiments was analysed statistically and discussed in this paper.

S u m m a r y

1. Mineral oils of refraction index from 1,4660 to 1,4729 are only efficient as protection from air-oxygen when the oil layer is 5 cm high.
2. The efficiency was determined for a period no longer than 8 hours.
3. All mineral oils used at 1, 1.5, 2, 3 and 4 cm layer thick do not prevent water from air-oxygen contamination.
4. When distilled water is protected by a layer of 5 cm of mineral oil the coefficient of variation of the ammount of the oxy-gen varies from 1 o/oo to 1,8 o/oo.
5. It has been demonstrated that vegetal oils of refraction index from 1,4713 — 1,4718 have greater permeability to the air-oxygen (table II) and, for this, they are not recommended for sealing water from respiration studies with aquatic animals.

Bibliografia

- ALLEE, W. C. & OESTING, R. — 1934 — A Critical Examination of Winkler's Method for determining dissolved Oxygen in Respiration Studies with aquatic Animals. *Physiol. Zool.*, v. 7, n.º 4, pp. 509-541. Chicago.
- ALSTERBERG, G. — 1925 — Methoden zur Bestimmung von in Wasser gelöstem elementaren Sauerstoff bei Gegenwart von salpetriger Säure. *Bioch. Zeit.*, v. 159, h.º 1/2, pp. 36-47, Berlin.
- ELVOVE, E. — 1914 — A comparison of methods for determining oxygen in water in the presence of nitrites. *Hyg. Lab. Bull.*, v. 96, pp. 15-35, Washington, D. C..
- HELFF, O. M. — 1928 — The Respiratory Regulation of the Crayfish, *Cambarus immunis* (Hagen) — *Physiol. Zool.*, v. 1, pp. 76-96, Chicago.
- HILL, S. E. — 1929 — The transportation of Carbon dioxide by paraffine oil and some other substances. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, v. 26, pp. 290-292, Utica, N. Y..
- KUBIE, L. S. — 1927 — The Solubility of O₂ and N₂ in Mineral Oil, and the transfer of Carbon Dioxide from Oil to Air. *J. B. Chemistry*, v. 72, pp. 545-548, Baltimore.
- LALLEMAND, S. — 1932 — Sur l'efficacité d'une couche d'huile de paraffine utilisée comme agent de protection contre l'oxigène de l'air. *C. R. S. Biol.*, v. 110, pp. 719-721, Paris.
- RIDEAL, S. & STUART, C. J. — 1901 — Determination of dissolved oxygen in water in the presence of nitrites and organic matter. *Analyst*, v. 26, pp. 141-148, ap. *Standard Methods for the examination of Water and Sewage*, 8.ª ed. 1943.
- VALENTE, D. 1945 — Consumo do oxigênio, em diferentes tensões pelo *Triphodactylus petropolitanus* Goeldi (Crustacea — Brachyura). *Bol. Fac. Fil. Ciênc. Letr. Univ. São Paulo, Zoologia* n.º 9, pp. 87-97. São Paulo.
- WILDER, J. E. — 1937 — A correlation of Results on Oxygen consumption obtained by the Winkler Method and by Respirometers using as a Standard the methods of Van Slyke. *Physiol. Zool.* v. 10, n.º 4, pp. 464-472. Chicago, III.